

Ocena rozprawy doktorskiej pt. **„Ocena udziału roztoczy Demodex spp. w etiopatogenezie wybranych chorób narządu wzroku”**

autorstwa Lek. **Michalina Nowak- Gabryel**

Nużeniec (*Demodex spp.*) jest pasożytem należącym do roztoczy. Po raz pierwszy został zidentyfikowany przez Bergera w 1841 roku. Jest on ektopasożytem należącym do grupy organizmów najczęściej zasiedlających skórę człowieka. Obecność nużeńca odnotowywana jest u wszystkich ras ludzkich, na różnych szerokościach geograficznych. Część naukowców dopatruje się w nużeńcu przyczyny chorób skóry, chorób związanych z aparatem ochronnym oka oraz jego powierzchnią a także świądu ucha zewnętrznego. Są jednak tacy, którzy uważają nużeńca za komensala, będącego składnikiem mikroflory i żyjącego w symbiozie z organizmem ludzkim. Lek. Michalina Nowak- Gabryel w swojej rozprawie doktorskiej porusza interesujące i stale aktualne zagadnienia dotyczące epidemiologii, wykrywania, terapii i związku demodekozy ze schorzeniami narządu wzroku.

Rozprawa doktorska liczy 111 stron, posiada staranny układ edytorski, typowy podział na rozdziały dla tego typu rozpraw, objaśnienie używanych skrótów na początku, streszczenie w języku polskim i angielskim. W obszernym wstępie poprzedzającym pracę rozpoczyna od rysu historycznego, skąd dowiadujemy się, że po raz pierwszy pasożyt ten został zidentyfikowany przez Bergera w listopadzie 1841 roku a związek nużeńca z narządem wzroku zaobserwował w 1875 roku Beclar. Następnie autorka przybliży czytającemu informacje na temat epidemiologii demodekozy. Budowa i rozwój nużeńca to kolejne informacje poparte licznymi, bardzo dobrze wykonanymi przez doktorantkę zdjęciami. Po opisie patogenezy, obrazu klinicznego i diagnostyce

autorka szeroko opisuje anatomie aparatu ochronnego narządu wzroku aby przybliżyć czytającemu jak duży zasięg może obejmować zakażenie roztoczymi, które to opisuje w rozdziale Obraz kliniczny chorób narządu wzroku. Są to przewlekłe zapalenie brzegów powiek, przewlekłe przednie zapalenie brzegów powiek, przewlekłe tylne zapalenie brzegów powiek, nieprawidłowy wzrost rzęs, wypadanie rzęs, zespół suchego oka, jęczmień, gradówka. Schorzenia te sprawiają wiele problemów pacjentowi, utrudniając niejednokrotnie normalne funkcjonowanie. Dodatkowo w przypadku konieczności długotrwałej terapii np. jaskry powodują nasilenie objawów ubocznych leków doprowadzając do dalszego uszkodzenia struktur gałki ocznej a w konsekwencji nietolerancji leków i konieczności zmiany terapii.

Po lekturze wstępu czytający ma pełne pojęcie o schorzeniu jakim jest demodekoza oczna a wnikliwość, z jaką autorka opisuje poszczególne zagadnienia dowodzi o doskonałej znajomości tematu.

Następnie lek Michalina Nowak- Gabryel przedstawiła uzasadnienie podjęcia tematu poprzez próbę jednoznacznego określenia patogenności nużeńca dla narządu wzroku.

Celem pracy była:

1. Ocena częstości występowania nużeńca w wybranych chorobach narządu wzroku.
2. Ocena częstości występowania objawów okulistycznych związanych z obecnością nużeńca.
3. Ocena flory bakteryjnej worka spojówkowego pacjentów i jej korelacji z danymi na temat flory bakteryjnej nużeńca.
4. Ocena zależności pomiędzy obecnością nużeńca i powodowanymi przez niego objawami a poziomem stężenia we łzach interleukiny 12 oraz interleukiny 17A, jako wykładników miejscowej reakcji zapalnej lub alergicznej.

Grupę badawczą tworzyli pacjenci Poradni Ogólnej lub Oddziału Okulistycznego Katedry Okulistyki i Kliniki Okulistycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Analizie poddano 217 oczu u 109 dorosłych. Grupę tą stanowiły 62 kobiety oraz 47 mężczyzn w wieku od 24 do 89 lat.

Pacjentów podzielono na dwa sposoby:

- a) W zależności od występowania dolegliwości zgłaszanych w momencie włączenia do badania na:  
„pacjentów objawowych”- i „pacjentów bezobjawowych”-
  
- b) W zależności od występowania nużeńca na:  
„pacjentów z nużeńcem” i „pacjentów bez nużeńca”-

Opisanie metodologii w dwóch miejscach w dziale pacjenci i potem w dziale metody jest utrudnieniem dla czytającego i czyni ten rozdział nieco niezrozumiałym. Doktorantka przeprowadziła pełne badanie przedmiotowe i podmiotowe z użyciem do oceny nasilenia objawów podmiotowych zespołu suchego oka kwestionariusza opracowanego na podstawie kwestionariusza OSDI. Szczegółowej analizie statystycznej poddano zmiany mogące mieć związek z zarażeniem nużeńcem. Oceniała obecność objawów takich jak: teleangiektazje na brzegach powiek, zaczerwienienie powiek, łuski u podstawy rzęsy, prawidłowość wzrostu rzęsy, zmiany na powiekach (guzy, gradówki, jęczmień). Badała również obecność choroby gruczołów Meiboma (MGD – Meibomian Gland Disease), obecność fałdów spojówkowych równoległych do brzegu powieki (LIPCOF) oraz ubytków nabłonka rogówki wg skali Oxfordzkiej. Ocenie podlegał także jakościowo i ilościowo film łzowy. Wszystkim pacjentom pobierano pęsetą 4 rzęsy z powieki górnej oraz 4 rzęsy z powieki dolnej obu oczu (z różnych części brzegu powieki) oraz po 4 włoski z brwi prawej i lewej. Pobierano również naskórek z powiek i okolicy oczu przy użyciu taśmy celofanowej, po wcześniejszym zeszkrobaniu powierzchniowej warstwy naskórka. Diagnostykę w kierunku nużeńca wykonano wg ogólnie przyjętych norm. W celu określenia zależności pomiędzy obecnością nużeńca a nasileniem odczynu zapalnego w obrębie odcinka przedniego oka przeprowadzono analizę stężenia wybranych cytokin zapalnych IL-12 oraz IL-17A badając ich poziom w filmie łzowym. Przeprowadzono także badanie flory bakteryjnej worka spojówkowego wykonując od razu posiew redukcyjny na 3 podłoża.

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej. Metody statystyczne zostały przeprowadzone z ogólnie przyjętymi zasadami dla tego typu badań i nie budzą zastrzeżeń.

Wyniki i ich omówienie Doktorantka przedstawia na 26 stronach w tym 38 tabelach i 14 rycinach

Lek Michalina Nowak- Gabryel nie wykazała zależności pomiędzy płcią pacjentów a występowaniem nużeńca. Stwierdziła natomiast zależność między wiekiem pacjentów a występowaniem pasożyta - częstość jego występowania wzrastała wraz z wiekiem pacjentów.

Na podstawie oceny częstości występowania nużeńca w poszczególnych chorobach aparatu ochronnego oraz powierzchni oka, stwierdzono możliwość udziału pasożyta w rozwoju jednostek chorobowych takich jak: zapalenie brzegów powiek oraz zespół suchego oka.

W rozprawie wykazano, że obecność roztoczy *Deomodex folliculorum* oraz *Demodex brevis* wiąże się z powstawaniem objawów okulistycznych takich jak teleangiektazje brzegów powiek, przekrwienie brzegów powiek, obecność łupieżu cylindrycznego u nasady rzęs, zaczopowanie ujść gruczołów Meiboma, zadrażnienie spojówki, obniżenie menisku łzowego <1 mm, większą liczbą fałdów spojówki w skali LIPCOF oraz wyższym stopniem uszkodzenia powierzchni oka w skali Oxfordzkiej. Wykazano, że liczba roztoczy w mieszkach włosowych rzęs i brwi oraz na skórze powiek ma wpływ na ich patogenność – liczba osobników była znamienne wyższa u pacjentów z chorobami aparatu ochronnego oka lub powierzchni gałki ocznej. Oceniając poziom cytokin zapalnych w łzach doktorantka wykazała istotną różnicę w zakresie stężenia IL-17A pomiędzy pacjentami u których występował nużeniec a osobami bez obecności pasożyta. Potwierdziła zatem dane z piśmiennictwa na temat roli interleukiny 17A jako lokalnego czynnika zaangażowanego w proces powstawania dolegliwości oraz zmian w odcinku przednim oka związanych z obecnością nużeńca.

Całość pracy Lek. **Michalina Nowak- Gabryel** kończy postawieniem dość obszernych 4 wniosków , z których część zawiera informacje , które powinny się znaleźć w rozdziale wyniki. Przedstawione wnioski to :

1. Na podstawie przeprowadzonej analizy częstości występowania nużeńca w wybranych chorobach odcinka przedniego oka można potwierdzić statystycznie częstszy jego udział w rozwoju wybranych jednostek chorobowych, takich jak zapalenie brzegów powiek oraz zespół suchego oka.
2. Obecność objawów okulistycznych, takich jak teleangiektazje i

przekrwienie brzegów powiek, łupież cylindryczny u nasady rzęs oraz zacopowanie ujść gruczołów Meiboma statystycznie częściej występuje u chorych zarażonych *Demodex folliculorum* oraz *Demodex brevis*. Istnieje zależność pomiędzy nasileniem infestacji nużeńcem, zarówno w rzęsach, brwiach jak i w skórze pacjentów a częstością występowania wyżej wymienionych objawów ze strony aparatu ochronnego lub powierzchni oka.

3. Podczas oceny flory bakteryjnej worka spojówkowego, nie odnotowano zależności pomiędzy występowaniem nużeńca a obecnością wyhodowanych bakterii.

4. W badaniu stwierdzono wyższą średnią wartość stężenia badanych cytokin zapalnych IL-12 oraz 17A u pacjentów zarażonych nużeńcem oraz zgłaszających objawy związane z chorobami aparatu ochronnego oka. Odnotowano istotnie statystycznie wyższy średni poziom IL-17A we łzach pacjentów z nużeńcem w porównaniu do pacjentów bez obecności pasożyta. Może to sugerować iż obecność pasożyta indukuje sekrecję IL-17A, która z kolei może stymulować proces zapalny lub powstanie reakcji alergicznej, z których za najważniejsze uważam brak korelacji zakażenia bakteryjnego z zakażeniem nużeńcem oraz spowodowana jego obecnością zwiększona sekrecja interleukin.

Rozdział „Piśmiennictwo” liczy 98 pozycji, z których najnowsze są z 2016 roku. Literatura została właściwie cytowana.

W pracy brakuje mi bardziej czytelnego opisu badanej grupy w jednym miejscu ( opis jest podzielony na część w rozdziale pacjenci i rozdziale metody), ryciny 10 i 11 powinny się znaleźć w rozdziale wyniki a ryciny 15-19 w części opisowej we wstępie. Uwagi te w niczym nie umniejszają wartości pracy lek. Michaliny Nowak- Gabryel, która jest dodatkowym oryginalnym wkładem doktorantki charakteryzującej się bardzo dobrym warsztatem naukowo - badawczym w ciągle aktualny temat , jakim jest diagnostyka i postępowanie w zakażeniu roztoczymi *Demodex*.

Rozprawa doktorska pt. „Ocena udziału roztoczy *Demodex* spp.w etiopatogenezie wybranych chorób narządu wzroku” autorstwa Lek. Michalina Nowak- Gabryel spełnia wszystkie wymogi stawiane pracom na stopień doktora

nauk medycznych.

Zwracam się, zatem z prośbą do Wysokiej Rady Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

4171358 Kierownik Kliniki CMKP  
Prof. dr hab. n. med.  
Iwona Grabska-Liberek

Prof. dr hab. n. med.  
Iwona Grabska-Liberek